**Влияние факторов преаналитического этапа на качество результатов лабораторных исследований**

Гудер В.Г. и др.

**Биологические факторы. Неустранимые факторы**

Внутренние факторы, такие как раса, пол и возраст, могут влиять на концентрации исследуемых клинико-химических и гематологических аналитов. Эти факторы являются индивидуальными особенностями пациента и поэтому их нельзя устранить. Очень часто внутренние и внешние факторы трудно разграничить.

Возраст может влиять на концентрации аналитов в крови и моче в период сразу после рождения, в пубертатный период и в старости. Число эритроцитов и, следовательно, гемоглобин у новорожденных значительно выше, чем у взрослых. В течение нескольких первых дней после рождения повышенное содержание кислорода в артериальной крови вызывает разрушение эритроцитов. Это приводит к повышению содержания гемоглобина и усиленному преобразованию его в билирубин. Поскольку функция печени (в данном случае - особенно глкжуронидация) у новорожденных еще не полностью установилась, наблюдается повышение концентрации билирубина.

Концентрация мочевой кислоты у новорожденных находится в тех же пределах, что и у взрослых людей. Однако, в течение нескольких дней после рождения отмечается ее значительное снижение. Среди других примеров возрастной зависимости - активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке (пик которой в период фазы роста отражает активность остеобластов в костной ткани) и содержание общего холестерина и липопротеинов низкой плотности. Кроме того, возрастная зависимость активности ЩФ и содержания липопротеинов низкой и высокой плотности в сыворотке испытывает влияние пола. Эти половые различия, в свою очередь, изменяются с возрастом.

Раса. Содержание аналитов от расовой принадлежности. По сравнению с европейцами у чернокожих американцев обоего пола содержание лейкоцитов существенно меньше. Эта разница без труда объясняется за счет уменьшенного числа гранулоцитов. Наоборот, содержание гемоглобина, гематокрита и число лимфоцитов одинаково в обеих группах. Число моноцитов у европейцев превышает этот показатель у негров. Значительные различия в активности креатинкиназы наблюдаются в обеих половых группах между европейцами и неграми. Эти различия не зависят от разницы в возрасте, росте и массе тела. Существенные различия в активности амилазы обнаружены между коренными жителями Западной Индии и исконными британцами. Исходя из общепринятого порогового значения, 50% уроженцев Западной Индии имели повышенную активность амилазы.

Значительные расовые различия были отмечены в отношении концентрации в сыворотке витамина В12 (у негров населения концентрация выше в 1,35 раза (183)) и Lp(a) (по сравнению с европейцами у негров концентрация в 2 раза выше). Важно, что при этом у негров, обладающих высоким уровнем Lp(a), не были повышены ни частота возникновения атеросклероза, ни смертность.

Пол. Как и в отношении внешнего вида и специфичных для каждого пола гормональных уровней, различия могут быть обнаружены и в клинико-химических и гематологических показателях). Половые различия в концентрации железа в сыворотке исчезают у пациентов старше 65 лет. Половые различия имеются и в активности креатинкиназы, и в концентрации креатинина. Сывороточная активность и концентрация зависят от мышечной массы, которая обычно более выражена у мужчин. Определенная спортивная тренировка, которая ведет к увеличению мышечной массы, может сглаживать эти различия.

Беременность. Трактуя результаты лабораторных исследований у беременных, необходимо учитывать срок беременности в момент взятия пробы. При физиологической беременности средний объем плазмы возрастает примерно от 2600 мл до 3900 мл, причем в первые 10 недель прирост может быть незначительным, а затем происходит нарастающее увеличение объема к 35 неделе, когда достигается указанный уровень. Объем мочи также может физиологически увеличиваться до 25% в 3-ем триместре. В последнем триместре наблюдается 50%-ное физиологическое повышение скорости клубочковой фильтрации. Хорошо известные свойственные беременности изменения выработки и концентрации в плазме половых гормонов сопровождаются изменениями различных аналитов, например тироидных гормонов, метаболитов, электролитов, белков и некоторых диагностически важных липидов, ферментов, факторов свертывания и компонентов фибринолитической системы. Скорость оседания эритроцитов при беременности повышается в 5 раз. Изменения концентраций аналитов вызваны повышением синтеза транспортных белков, увеличением скорости обменных процессов и разведением крови.

**Изменение физического состояния**

Диета и потребление жидкости служат основными факторами, влияющими на многие аналиты в клинической химии. Степень вызванных приемом пищи изменений содержания аналитов зависит от состава пищи времени, прошедшем от момента приема пищи до взятия пробы. На концентрацию холестерина и триглицеридов в сыворотке оказывают влияние такие факторы, как состав пищи, физическая активность, курение, употребление алкоголя и кофе. Напротив, при диете, богатой белками и нуклеотидами, наблюдается повышение уровней аммиака, мочевины и мочевой кислоты. Изменения, наблюд,ющиеся после приема стандартного количества углеводов (75 г ), используются в диагностике при определении толерантности к глюкозе. С другой стороны, недостаточное питание и голодание могут изменить концентрации аналитов клинически значимым образом. Ранними индикаторами бедной белками диеты являются снижение концентрации преальбумина и ретинол-связывающего белка.

Голодание. Длительное голодание тесно связано со снижением расхода энергии и, как следствие, в сыворотке снижены концентрация Т4 и в еще большей степени Т3. Помимо данных изменений, при длительном голодании также изменяется экскреция с мочой многих веществ. Экскреция с мочой аммиака и креатинина повышается тогда как выделение мочевины, кальция и фосфатов снижается. Изменения концентрации аналитов при длительном голодании подобны тем, которые наблюдаются у пациентов после хирургических вмешательств и в катаболическом состоянии.

При количественном измерении уровней мочевой экскреции предпочтительно выполнять определение показателей за сутки, чем на литр, чтобы исключить влияние количества выпиваемой воды и ее выведения.

Во избежание неправильной интерпретации лабораторных результатов в качестве стандартной процедуры взятие образцов рекомендуется производить после 12-часового голодания и при сниженной физической активности.

Физические упражнения. Следует выделить 2 типа упражнений. При упражнениях первого типа - статических или изометрических упражнениях короткой продолжительности и высокой интенсивности - используется энергия, уже запасенная в мышцах (АТФ, креатинфосфат), и при упражнениях второго типа - динамических или изотонических упражнениях малой интенсивности и большой продолжительности (например, бег, плавание, езда на велосипеде) - используется АТФ, образуемый аэробным или анаэробным путем. Кроме того, следует учитывать влияние физической тренированности и мышечной массы. Быстро возникающие изменения аналитов во время упражнений обусловлены сдвигами объемов жидкости между внутрисосудистым и интерстициальным пространствами, потерей жидкости в связи с потоотделением и изменением концентрации гормонов (например, повышения концентрации адреналина, норадреналина, глюкагона, СТГ, кортизола, АКТГ и снижения концентрации инсулина).

Эти гормональные сдвиги, в свою очередь, могут приводить к изменениям числа лейкоцитов более чем до 25 г/л, а также повышению концентрации глюкозы.

Изменения могут отчасти объясняться вышеупомянутым смещением объема жидкости из внутрисосудистого пространства в интерстициальное или потерей жидкости с потом. Повышение концентрации мочевой кислоты в сыворотке является следствием снижения ее экскреции с мочой из-за повышения концентрации лактата. Опосредованный гипоксией прирост кретинкиназы зависит от состояния тренированности и, следовательно, показывает высокую степень индивидуальной вариабельности. У физически менее тренированного человека увеличение содержания креатинкиназы более выражено. Тренировка повышает количество и размер митохондрий, что сочетается с повышенной емкостью окислительной ферментной системы. Это, в свою очередь, повышает способность мышц потреблять глюкозу, жирные кислоты и кетоновые тела по по путям аэробного окисления. Как следствие, доля митохондриального изофермента КК - МВ возрастает до 8% от общей активности креатинкиназы без признаков нарушения функции миокарда. Хорошо тренированные люди имеют более высокий процент КК-МВ в скелетных мышцах по сравнению с нетренированными. Некоторые другие аналиты также зависят от степени тренированности и мышечной массы. Так, содержание креатинина в плазме, в моче и его экскреция повышены, а образование лактата снижено после выполнения физических упражнений у тренированных людей по сравнению с нетренированными. Чрезмерная физическая нагрузка может вызвать появление в моче эритроцитов и других клеток крови. Тем не менее, вызванные физической нагрузкой изменения обычно исчезают в течение нескольких дней.

Высота над уровнем моря. Содержание некоторых компонентов крови подвержено значительным изменениям в зависимости от высоты над уровнем моря. С увеличением высоты значительное повышение наблюдается в отношении, например С-реактивного белка (до 65% на высоте 3600 м), (32-глобулина в сыворотке (до 43% на высоте 5400 м), гематокрита и гемоглобина (до 8% на высоте 1400 м) и мочевой кислоты. Адаптация к высоте занимает недели, а возвращение к значениям на уровне моря происходит в течение нескольких дней. Значительное снижение величин с ростом высоты над уровнем моря обнаружено в отношении мочевого креатинина, клиренса креатинина, эстриола (до 50% на высоте 4200 м), осмоляльности сыворотки, ренина плазмы и трансферрина сыворотки.

Стимуляторы и вызывающие зависимость препараты в качестве влияющих факторов биологического характера

Кофеин содержится во многих компонентах повседневной пищи. Несмотря на его широкое распространение, влияние кофеина на различные клинико-химические аналиты детально не исследовано. Кофеин ингибирует фосфодиэстеразу и, следовательно, расщепление циклического АМФ. Циклический АМФ усиливает гликогенолиз, тем самым увеличивая концентрацию глюкозы в крови. Кроме того, концентрация глюкозы возрастает из-за стимуляции глюконеогенеза под влиянием адреналина. Активация триглицеридлипазы ведет к троекратному повышению этерифицированных жирных кислот. Количественное определение гормонов и лекарственных веществ, связанных с альбумином, затрудняется из-за вызванного жирными кислотами эффекта замещения. Через 3 часа после приема 250 мг кофеина повышается активность ренина плазмы и концентрация катехоламинов. Следовательно, при исследовании данных аналитов потребление кофеина должно учитываться.

Влияние курения. Курение вызывает множество острых и хронических изменений концентраций аналитов, причем хронические эффекты скорее умеренные. Курение повышает концентрации в плазме или сыворотке жирных кислот, адреналина, свободного глицерина, альдостерона и кортизола. Эти изменения наблюдаются в пределах 1 часа при курении 1-5 сигарет. Изменения, вызванные хроническим курением, касаются числа лейкоцитов, липопротеинов, активности некоторых ферментов гормонов, витаминов, опухолевых маркеров, тяжелых металлов.

Механизм, лежащий в основе этих изменений, полностью не выяснен. В табачном дыме обнаружено большое количество соединений пиридина, цианистый водород и тиоцианаты. Их прямое и непрямое влияние может учитываться применительно к возникающим изменениям концентрации.Снижение активности ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) у курильщиков признается результатом деструкции клеток легочного эпителия с последующим снижением высвобождения АПФ в системе легочного кровообращения и/или ингибированием фермента. Степень изменений также зависит от количества, вида (сигареты, сигары, трубки) и техники курения (с вдыханием дыма или без этого). Кроме того, вызванные курением изменения зависят от возраста и пола.

Алкоголь. Употребление алкоголя в зависимости от его продолжительности и степени может влиять на многие аналиты. Эти изменения частично используются для диагностики и терапевтического мониторинга. Среди обусловленных алкоголем изменений следует выделять остро и хронически возникающие изменения.

Остро возникающие изменения (в течение 2-4 часов) при употреблении этилового спирта проявляются снижением глюкозы в сыворотке и повышением лактата в плазме в результате торможения глюконеогенеза в печени. Этанол превращается в ацетальдегид и затем в ацетат. Это повышает образование в печени мочевой кислоты. Вместе с лактатом ацетат снижает содержание бикарбоната в сыворотке, вызывая метаболический ацидоз. Повышенный уровень лактата снижает экскрецию с мочой мочевой кислоты. Как следствие, после острого употребления алкоголя концентрация мочевой кислоты в сыворотке возрастает. Хронические изменения, возникающие при употреблении этилового спирта включают повышение в сыворотке активности печеночных ферментов. Повышение активности гамма-глютамилтрансферазы вызывается индукцией фермента. Активность глютаматдегидрогеназы, как и аминотрансфераз (ACT, АЛТ), повышается вследствие прямого токсического влияния на печень. Повышение в крови десиалированных белков (например, углевод-дефицитного трансферрина) связано с торможением ферментативного гликозилирования в пост-трансляционной стадии образования этих белков в печени. При хроническом алкоголизме содержание сывороточных триглицеридов возрастает вследствие снижения расщепления триглицеридов в плазме. Повышение MCV может быть связано с прямым токсическим влиянием на кроветворные клетки или в связи с дефицитом фолиевой кислоты.

Препараты, вызывающие зависимость. Вызывающие зависимость вещества, такие как амфетамин, морфин, героин, марихуана и кокаин, могут оказывать влияние на результаты лабораторных тестов. Морфин вызывает спазм сфинктера Одци, что приводит к повышению таких ферментов, как амилаза и липаза.

**Взятие образцов. Влияние циркадного ритма**

Некоторые аналиты обнаруживают тенденцию к колебаниям их концентрации в плазме в течение суток. Так, концентрация калия ниже после полудня, по сравнению с утренней, тогда как содержание кортизола возрастает в течение дня и снижается ночью. Ритм кортизола является причиной недостоверных результатов теста на толерантность к глюкозе, проводимого во второй половине дня. По этой причине референтные интервалы обычно устанавливают при исследованиях между 7 и 9 часами утра. На циркадном ритме могут отражаться влияния индивидуальных ритмов - еды, сна, физической активности. Эти влияния не следует путать с действительно циркадными колебаниями. В некоторых случаях следует учитывать сезонные влияния. Так, содержание трийодтиронина (Т3) на 20% ниже летом, чем зимой, тогда как 25-ОН-холекальциферол обнаруживается в большей концентрации летом.

Аналиты могут изменяться в течение менструального цикла. Статистически значимые изменения аналитов могут быть вызваны колебаниями уровней гормонов при менструации. Так, концентрация альдостерона в плазме определяется в два раза выше перед овуляцией, чем в фолликулярной фазе. Подобным образом, ренин может проявить преовуляторное повышение. Даже холестерин существенно снижается при овуляции. Наоборот, фосфаты и железо снижаются при менструации.

Выбор времени по отношению к диагностическим и лечебным процедурам. Многие диагностические процедуры способны оказывать влияние на результаты лабораторных исследований. Чтобы предотвратить такое влияние, взятие проб необходимо производить до выполнения диагностических процедур, способных оказать влияние на результаты теста. Точно так же введение лекарственных препаратов, способных оказать влияние на результаты исследований, следует назначать после взятия у него проб крови.

С другой стороны, при проведении лекарственного мониторинга точное время взятия пробы становится очень важным для правильной интерпретации результата исследования уровня лекарственного вещества.

Важные правила выбора времени взятия проб биоматериалов:

По возможности, пробы следует брать между 7 и 9 часам утра.

Взятие проб должно выполнятся через 12 часов после последнего приема пищи.

Взятие проб должно выполнятся до проведения диагностических и лечебных процедур, способных оказать влияние на результаты теста.

В случае проведения лекарственного мониторинга следует учитывать наличие пика концентрации после введения лекарственного препарата и фазу устойчивого состояния перед введением следующей дозы препарата.

Всегда следует отмчать точное время взятия пробы в соответствующих документах.

Но:

Анализ пробы, взятой не во время, может быть хуже, чем отсутствие анализа вообще.

Проба, результат анализа которой поступает слишком поздно, взята напрасно.

**Транспартировка и хранение**

Влияния времени и температуры при транспортировке. Передача проб в лабораторию может осуществляться различными путями. Обычно пробы передаются за короткий срок, если лаборатория расположена поблизости или в самой клинике и при этом не возникает никаких проблем. Однако интервал времени от момента взятия пробы крови до ее центрифугирования не должен превышать1 час. Выполнение некоторых аналитических процедур требует использования специальных добавок, например, фторид натрия/оксалат для количественного определения лактата или натрий-борат серина ЭДТА для определения аммиака. Определение требует осторожного обращения с пробой ЭДТА крови. Передача проб в лабораторию может быть осуществлена с курьером или использованием пневматической почты. Лучшие системы последнего типа обеспечивают бережную транспортировку проб, не вызывающую гемолиза. Такие пробы могут быть использованы для определения аналитов в клинической химии, гематологии или для проведения анализа газов крови. Если по техническим причинам требуется транспортировка проб на большие расстояния, (например, по почте или через лабораторного курьера), то использование проб цельной крови должно быть исключено.

Высвобождение калия из эритроцитов при комнатной температуре минимально вследствие температурной зависимости активности Na+K+ -АТФ-азы. Этот эффект усиливается при 4 °С и свыше 30 °С. Концентрация глюкозы с повышением температуры снижается, тогда как в отношении явление, поскольку его концентрация повышается под влиянием активности фосфатаз в сыворотке и эритроцитах.

В пробах крови,полученных патологией, могут наблюдаться наблюдаемых под влиянием времени и температуры. При лейкоцитозе зависимое от фактора времени снижение концентрации глюкозы еще более выражено. Аналогично, концентрации аммиака усиливается Y-глютамилтрансферазы. Изменение количества клеток крови влияние зависимости самих антител от температуры.

Содержание многих клинико-химических аналитов, таких как электролиты, субстраты или ферменты, может не изменяться при пересылке проб по почте длительностью до 4 дней. Концентрация гемоглобина и количество эритроцитов также остаются стабильными.

При пересылке крови или других биологических жидкостей, взятых от человека, в отдаленную лабораторию должны соблюдаться строгие правила безопасности. Кроме того, должна быть обеспечена целостность пробы для того, чтобы результат анализа был бы правильным. Образцы, пересылаемые по почте, должны «быть устойчивыми к протеканию содержимого, ударам, изменениям давления и другим воздействиям, которые могут возникнуть при обычной транспортировке».

**10 правил и некоторые рекомендации**

Процедура определяется стабильностью компонентов пробы. Наиболее важные причины нарушения качества образца следующие:

Метаболизм клеток крови

Испарение/сублимация

Химические реакции

Разрушение микробами

Осмотические процессы

Воздействие света

Диффузия газа

Быстрая транспортировка и короткий срок хранения улучшают достоверность результатов лабораторных исследований.

Образцы и пробы сохраняются тем лучше, чем ниже температура их хранения хранения (но, заметьте, существуют исключения!).

Образцы и пробы всегда должны храниться в закрытых сосудах (испарение!).

Опасность испарения существует и в холодильниках (конденсация влаги на охлаждающих элементах).

Проблемы хранения уменьшаются при использовании одноразовых систем для сбора проб.

Разделительные элементы (например, разделительные гели) улучшают выход сыворотки/плазмы и позволяют оставлять сыворотку в первичных пробирках над сгустком.

Избегайте встряхивания сосудов с пробами (системы пневматической доставки пробирок!): риск гемолиза.

Всегда храните сосуды с кровью в вертикальном положении; процесс свертывания ускоряется.

Маркируйте инфицированный материал и обращайтесь с ним с особой осторожностью.